

# Daya Antiinflamasi Salep Basis Larut Air Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Variasi Komposisi Enhancer Asam Oleat dan Propilen glikol

*By* NINING SUGIHARTINI

## Daya Antiinflamasi Salep Basis Larut Air Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Variasi Komposisi *Enhancer* Asam Oleat dan Propilen glikol

### (Anti-inflammatory Activity of Ointment in Water Soluble Base of Volatile Oil of *Syzygium aromaticum* with Variation Composition of Oleic acid and Propylene glycol as Enhancer)

Dewi Rahmawati, Nining Sugihartini, Tedjo Yuwono

Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Sediaan antiinflamasi salep minyak atsiri bunga cengkeh basis larut air telah terbukti berkhasiat sebagai antiinflamasi dengan kandungan zat aktif *eugenol*. Penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan penetrasi *eugenol* dalam menembus lapisan kulit perlu dilakukan dengan penambahan *enhancer*. **Tujuan:** Mengetahui daya antiinflamasi salep basis larut air minyak atsiri bunga cengkeh dengan variasi komposisi campuran asam oleat dan propilen glikol sebagai *enhancer*. **Metode:** Salep dibuat dan menggunakan metode peleburan. Penambahan komposisi *enhancer* mengacu pada sistem *Simplex Lattice Design* untuk formula 1, formula 2, dan formula 3 berturut-turut digunakan: 100% asam oleat; 50% asam oleat : 50% propilen glikol; dan 100% propilen glikol. Salep kemudian dievaluasi aktivitas antiinflamasi dengan parameter tebal epidermis, jumlah sel radang, dan jumlah sel yang terekspresi *cyclooxygenase-2* (COX-2). Uji daya antiinflamasi menggunakan mencit jantan galur BALB/C yang diinduksi dengan *croton oil*. **Hasil:** Uji menunjukkan bahwa komposisi *enhancer* asam oleat dan propilen glikol memengaruhi daya antiinflamasi salep basis larut air minyak atsiri bunga cengkeh. **Simpulan:** Peningkatan komposisi propilen glikol meningkatkan daya antiinflamasi salep.

**Kata kunci:** minyak atsiri bunga cengkeh, salep basis larut air, antiinflamasi, *enhancer*.

#### ABSTRACT

**Background:** The dosage form of ointment clove essential oil in water-soluble base has proven efficacious as anti-inflammatory with eugenol as active substance. Further research to increase the penetration of eugenol in penetrating the skin layer needs to be done with the addition of enhancer. **Purpose:** To determine the anti-inflammatory activity of ointment base water soluble of clove essential oil with composition variation of oleic acid and propylene glycol as enhancers. **Methods:** The ointment was made using fusion method. Addition of enhancer composition refers to the system *Simplex Lattice Design* for Formula 1, Formula 2 and Formula 3 successively used: 100% oleic acid; 50% oleic acid: 50% propylene glycol; and 100% propylene glycol. The evaluation of anti-inflammatory activity was based on the parameters epidermal thickness, the number of inflammatory cells, and the number of cells that expressed *cyclooxygenase-2* (COX-2). The anti-inflammatory tests used male mice strain BALB/C which was induced by croton oil. **Results:** The enhancer composition of oleic acid and propylene glycol affect the activity of ointment clove essential oil in water-soluble base. **Conclusion:** The increasing composition of propylene glycol improved anti-inflammatory activity of ointment.

**Key words:** essential oil of clove, water-soluble ointment base, anti-inflammatory, enhancer.

Alamat korespondensi: Nining Sugihartini, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, kampus III: Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Umbulharjo, Yogyakarta 55164. Telepon: (0274) 563515, Fax (0274)564604; 081291136034, email: nining.sugihartini@pharm.uad.ac.id.

#### PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respons perlindungan normal saat terjadi kerusakan jaringan atau infeksi pada tubuh. Inflamasi juga berfungsi untuk melawan

zat-zat asing yang masuk ke dalam tubuh (mikroorganisme atau zat asing lain). Proses inflamasi juga berperan untuk mengeliminasi sel-sel inang yang telah rusak atau mati.<sup>1</sup> Respons ini merupakan upaya

tubuh dalam meminimalkan kerusakan jaringan serta memulai proses penyembuhan pada jaringan.<sup>2</sup> Proses ini melalui serangkaian mekanisme seperti vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler, peningkatan aliran darah, dan juga pergerakan leukosit ke tempat inflamasi untuk menetralkan kerusakan.<sup>3</sup>

Salah satu bahan aktif yang telah terbukti berkhasiat sebagai antiinflamasi adalah minyak atsiri bunga cengkeh. Kandungan *eugenol* (*4-allyl-2-methoxyphenol*) dalam minyak atsiri bunga cengkeh telah banyak diteliti terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi.<sup>4</sup> Mekanisme kerja *eugenol* sebagai anti inflamasi melalui penghambatan terhadap sintesis prostaglandin dan *neutrofil chemotaxis*, selain itu juga mampu menghambat faktor *nuclear factor-kB* (NF-kB) dalam mengaktifkan faktor *tumor necrosis factor-α* (TNF-α) dan menghambat ekspresi *cyclooxygenase-2* (COX-2) dalam *lipopolisakarida* (LPS) yang dirangsang makrofag.<sup>2,5,6</sup>

Minyak atsiri bunga cengkeh dengan bahan aktif *eugenol* berperan sebagai inflamasi, telah dikembangkan bentuk sediaan yang dapat diterima dengan baik oleh masyarakat luas. Bentuk sediaan salep basis larut air yang diaplikasikan pada permukaan kulit yang mengalami inflamasi merupakan salah satu sediaan yang dapat diterima baik karena telah banyak digunakan oleh masyarakat. Disertasi tahun 2016 oleh Diah menunjukkan bahwa formulasi minyak atsiri bunga cengkeh basis larut air konsentrasi 5% dapat digunakan sebagai antiinflamasi. Pengembangan berikutnya dilakukan untuk meningkatkan kemampuan penetrasi agar sifat antiinflamasi meningkat.

*Enhancer* atau peningkat penetrasi adalah bahan yang dapat meningkatkan permeabilitas kulit ataupun mengurangi impermeabilitas kulit.<sup>7</sup> Bahan peningkat penetrasi tidak memiliki efek terapi, tetapi dapat meningkatkan daya transport obat ke dalam kulit. Alasan dibutuhkan penggunaan bahan peningkat penetrasi adalah adanya sawar penetrasi, yaitu *stratum korneum*.

Peneliti ingin melihat aktivitas antiinflamasi dari sediaan salep basis larut air minyak atsiri dari bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang telah terstandarisasi dengan penambahan *enhancer*. Diharapkan penambahan *enhancer* akan meningkatkan efek *eugenol* sebagai antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi tersebut diuji dengan menghitung daya antiinflamasi berdasarkan parameter ketebalan epidermis, jumlah sel radang, dan COX-2.

## METODE

Bahan yang digunakan adalah minyak atsiri bunga cengkeh yang didapat dari Pusat Studi Minyak Atsiri/Center of Essential Oils Studies (CEOS) Universitas Islam Indonesia Sleman Yogyakarta, Polietilen glikol (PEG) 400 (derajat farmasetis) dan PEG 4000 (derajat farmasetis), *crotton oil* (Sigma), mencit jantan galur BALB/c umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g, perontok rambut (*Veet*) dan mikroskop (Olympus).

Pembuatan salep minyak atsiri bunga cengkeh dalam basis larut air dilakukan dengan cara sebagai berikut: konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yang digunakan dalam pembuatan salep basis larut air adalah konsentrasi optimum pada penelitian tesis yang dilakukan oleh Diah sebelumnya, yaitu sebesar 5%. Selanjutnya dalam formula tersebut ditambahkan *enhancer* asam oleat dan propilen glikol yang komposisi optimumnya telah ditentukan berdasarkan metode *Simplex Lattice Design* seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Metode pembuatan formula salep basis larut air minyak atsiri bunga cengkeh menggunakan metode *peleburan*. Salep dibuat dengan memanaskan PEG 400 dan PEG 4000 kemudian diaduk sampai terbentuk massa yang kental dan homogen lalu dimasukkan *enhancer* (asam oleat dan propilen glikol) dan diaduk sampai homogen. Minyak atsiri ditambahkan ketika sudah dingin kemudian dicampur hingga homogen.

Evaluasi daya antiinflamasi dilakukan terhadap 4 kelompok mencit jantan galur BALB/C (berat badan 20-30 g, umur 2-3 bulan). Pembagian kelompok mencit sebagai berikut: kelompok kontrol positif, pada kelompok ini mencit mendapatkan induksi agen inflamasi (0,1 ml *crotton oil* konsentrasi 4%) kemudian diberikan produk pembanding sediaan topikal voltaren® (produk pasaran) sebanyak 100 mg yang telah diketahui berkhasiat sebagai antiinflamasi; kelompok kontrol negatif, pada kelompok ini mencit mendapatkan induksi agen inflamasi saja tanpa diberikan agen antiinflamasi apapun; kelompok kontrol sehat, pada kelompok ini mencit tidak mendapatkan induksi agen inflamasi maupun perlakuan terhadap sampel F1, F2, dan F3, kelompok ini juga dikenal sebagai kelompok *baseline*; kelompok salep larut air tanpa *enhancer*, pada kelompok ini mencit mendapatkan induksi agen inflamasi kemudian diberikan salep larut air minyak atsiri bunga cengkeh tanpa *enhancer* asam oleat dan propilen glikol; kelompok variasi *enhancer* F1, F2, dan F3, pada kelompok ini mencit mendapatkan induksi agen inflamasi kemudian diberikan salep minyak atsiri bunga cengkeh dalam basis larut air.

Prosedur induksi inflamasi adalah pertama-tama punggung mencit dicukur rambutnya sampai bersih.

Setelah 24 jam, punggung mencit ditetesi dengan 0,1 ml *croton oil* konsentrasi 4% pada luas area 2x2 cm. Pengolesan salep sebesar 100 mg dilakukan 30 menit setelah penetesan *croton oil*. Hari berikutnya juga diberi perlakuan yang sama. Perlakuan tersebut diberikan selama 3 hari. Setelah itu mencit dikorbkan dan diambil jaringan bagian punggungnya untuk dibuat preparat pengecatan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan COX-2. Kulit diambil di sekitar daerah perlakuan dengan ukuran 1x1 cm. Jaringan kulit dimasukkan dalam wadah yang telah berisi larutan formalin 10% hingga potongan kulit 6endam sempurna yang kemudian dibawa ke bagian Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan HE. Tesis yang dilakukan oleh Utami 13 menggunakan pengecatan dengan antibodi anti-COX-2 dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RS Dr. Sardjito Yogyakarta. Preparat yang sudah dicat kemudian diukur tebal epidermis, jumlah sel radang, dan jumlah ekspresi COX-2. Tebal epidermis dihitung pada bagian sel

epidermis dengan menggunakan program (*ToupView*) yang dihubungkan dengan mikroskop cahaya dengan satuan piksel yang kemudian diubah menjadi  $\mu\text{m}$ .<sup>8</sup> Jumlah sel radang dilakukan dengan menghitung jumlah sel neutrofil yang bermigrasi, demikian juga sel yang mengekspresikan COX-2 pada 23 daerah subkutan jaringan kulit punggung mencit dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Tesis yang dilakukan oleh Utami S tentang ekspresi COX-2 pada mencit betina melakukan penilaian persentase ekspresi COX-2 masing-masing perlakuan dengan persamaan :

$$\% \text{ ekspresi COX-2} = \frac{\text{jumlah sel ekspresi COX-2}}{\text{total sel hitung}} \times 100\%$$

## HASIL

Profil jumlah sel dengan ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan konsep *Simplex Lattice Design* maka dapat dihitung jumlah sel dengan ekspresi COX-2 pada komposisi *enhancer* lainnya sehingga terbentuk kurva seperti disajikan pada Gambar 1, 2, 3.

**Tabel 1.** Formula sediaan salep basis larut air minyak atsiri bunga cengkeh dengan penambahan *enhancer* asam oleat dan propilen glikol

Bahan	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Minyak atsiri bunga cengkeh	5	5	5
Asam oleat	10	5	0
Propilen glikol	0	5	10
PEG 4000	42,5	42,5	42,5
PEG 400	42,5	42,5	42,5
Jumlah	100	100	100

Keterangan =

Formula 1 : Formula salep larut air dengan komposisi asam oleat 100%

Formula 2 : Formula salep larut air dengan komposisi asam oleat 50% dan propilen glikol 50%

Formula 3 : Formula salep larut air dengan komposisi propilen glikol 100%

PEG : Polietilen glikol

**Tabel 2.** Jumlah sel dengan ekspresi COX-2, tebal epidermis, jumlah sel radang pada kelompok perlakuan kontrol sehat, kontrol positif, kontrol negatif, salep tanpa *enhancer* dan salep dengan penambahan *enhancer* asam oleat 100% (F1), asam oleat 50%:propilen glikol 50% (F2), dan propilen glikol 100% (F3) (N=6)

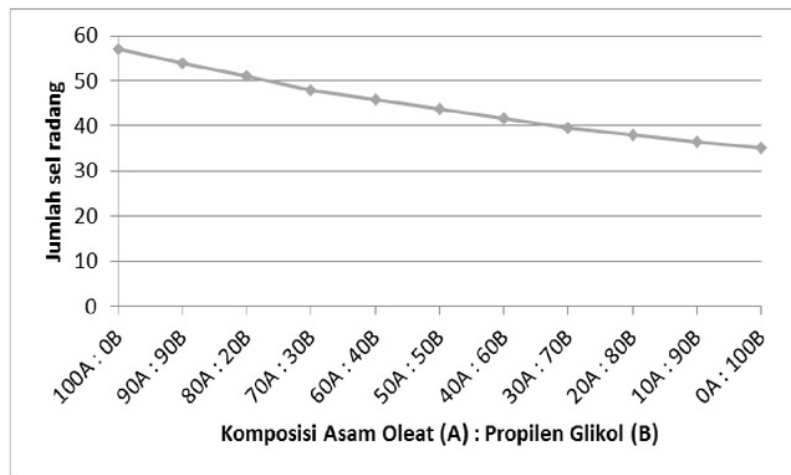
Perlakuan	Jumlah ekspresi COX-2 (%)	Tebal epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Jumlah sel radang
Kontrol sehat	18,60 $\pm$ 4,95	81,90 $\pm$ 26,88	13,17 $\pm$ 2,31
Kontrol positif	31,23 $\pm$ 2,41	107,70 $\pm$ 8,42	59,67 $\pm$ 2,50
Kontrol negatif	43,63 $\pm$ 3,57	228,00 $\pm$ 12,95	70,83 $\pm$ 3,66
Salep tanpa <i>enhancer</i>	28,14 $\pm$ 3,69	180,80 $\pm$ 2,11	58,67 $\pm$ 0,52
F1	27,42 $\pm$ 4,46	176,3 $\pm$ 3,68	57,00 $\pm$ 4,89
F2	20,76 $\pm$ 2,47	168,40 $\pm$ 2,36	43,66 $\pm$ 5,88
F3	19,79 $\pm$ 4,26	157,10 $\pm$ 3,23	13,33 $\pm$ 1,86

Keterangan =

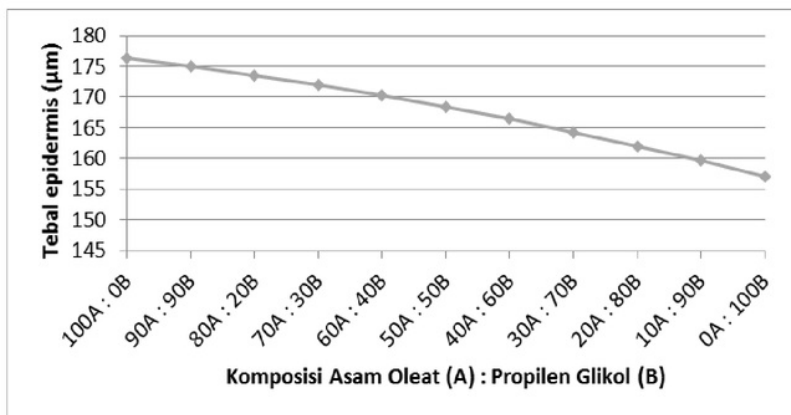
COX-2 : Cyclooxygenase-2



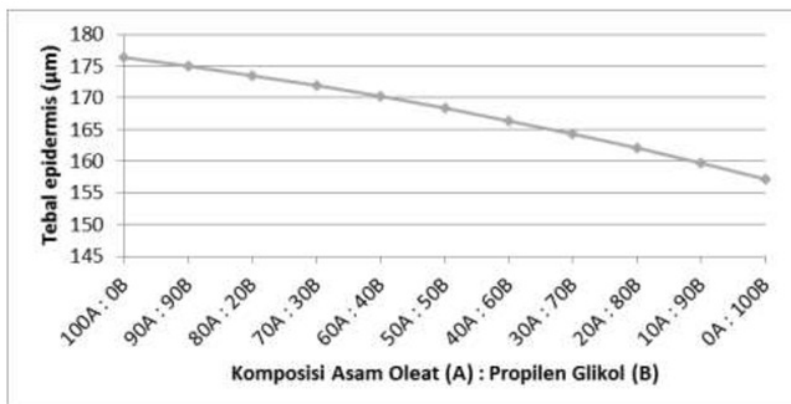
- F1 : Formula salep larut air dengan komposisi asam oleat 100%  
 F2 : Formula salep larut air dengan komposisi asam oleat 50% dan propilen glikol 50%  
 F3 : Formula salep larut air dengan komposisi propilen glikol 100%  
 PEG : Polietilen glikol



Gambar 1. Grafik profil jumlah sel radang dengan penambahan *enhancer*.



Gambar 2. Grafik profil tebal epidermis kelompok perlakuan.



Gambar 3. Grafik profil tebal epidermis kelompok perlakuan.

## PEMBAHASAN

Pada gambar 1, 2, dan 3 dapat diketahui bahwa semakin banyak komposisi propilen glikol maka jumlah persentase ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang menjadi menurun. Hal ini menunjukkan potensi propilen glikol sebagai *enhancer* yang dapat meningkatkan kelarutan obat dalam stratum korneum sehingga meningkatkan jumlah *eugenol* yang penetrasi melewati kulit sehingga jumlah ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang menjadi berkurang.<sup>9,10</sup> Berdasarkan penelitian pascasarjana yang dilakukan oleh Sugihartini N tahun 2015, diketahui bahwa jumlah persentase ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang secara berturut-turut untuk sediaan salep tanpa *enhancer* yaitu sebesar 28,14±3,69; 180,8±2,11; 58,67±0,52. Hal ini membuktikan bahwa penambahan *enhancer* dapat meningkatkan penetrasi *eugenol* ke dalam kulit sehingga aktivitas sebagai antiinflamasi meningkat yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah persentase ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kontrol negatif dan kontrol sehat ( $p>0,05$ ) pada semua parameter uji. Hal ini membuktikan bahwa pemberian *croton oil* mampu menginduksi terjadinya inflamasi pada kulit. Pada kelompok perlakuan yang diberikan F1, F2, dan F3 terjadi penurunan jumlah persentase ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang yang berbeda signifikan dengan kontrol negatif ( $p<0,05$ ), oleh karena itu dapat dikatakan bahwa F1, F2, dan F3 memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Aktivitas tersebut juga didukung oleh adanya penambahan *enhancer*. Hal ini terlihat dari adanya perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ) antara kelompok kontrol tanpa *enhancer* dengan kelompok perlakuan yang diberikan F1, F2, dan F3, namun demikian penurunan jumlah persentase ekspresi COX-2, tebal epidermis, dan jumlah sel radang tersebut belum bisa menyebabkan kulit yang mengalami inflamasi kembali ke kondisi sehat karena masih ada perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ) dengan kontrol sehat. Hal tersebut kemungkinan karena pemberian salep basis larut air minyak atsiri bunga cengkeh yang masih singkat yaitu 3 hari sehingga belum dapat memberikan efek yang maksimal. Demikian juga dengan kontrol positif masih ada perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas formula yang ada masih belum sama dengan aktivitas antiinflamasi sediaan obat yang sudah ada di pasaran. Komposisi *enhancer* ternyata juga berpengaruh terhadap jumlah persentase

ekspresi COX-2. Hal ini ditunjukkan oleh adanya perbedaan yang signifikan antara F1, F2, dengan F3.

Secara umum dapat terlihat bahwa komposisi *enhancer* asam oleat dan propilen glikol memengaruhi daya antiinflamasi salep basis larut air minyak atsiri bunga cengkeh. Formula 3 dengan perbandingan asam oleat 0%: propilen glikol 100% memiliki jumlah ekspresi COX-2, jumlah sel radang, dan tebal epidermis yang paling kecil.

## 5. EPUSTAKAAN

1. Stevenson DE, Hurst RD. Polyphenolic phytochemicals-just antioxidants or much more? review. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 2900-16.
2. Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. *Inflammation & Allergy - Drug Targets* 2009; 8: 229-35.
3. Lima M., Montenegro A, Almeida CLF, Filho A, Batista LM. Database survey of anti-inflammatory plants in south America: a review. *Journal of Molecular Sciences* 2011; 12: 2692-29.
4. Chainy GBN, Manna SK., Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Anethole blocks both early and late cellular responses transduced by tumor necrosis factor: effect on NF $\kappa$ B, AP-1, JNK, MAPKK and apoptosis. *Oncogene* 2000; 19: 843-950.
5. Ma Q, Kineer K. Chemoprotection by phenolic antioxidants, inhibition of tumor necrosis factor alpha induction in macrophages. *Journal Biology Chemical* 2002; 277: 2477-484.
6. Murakami Y, Shoji M, Hanazawa S, Tanaka S, Fujisawa S. Preventive effect of bis-eugenol, a eugenol ortho dimer, on lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor kappaB activation and inflammatory cytokine expression in macrophages. *Biochemical Pharmacology* 2003; 66:1061-66.
7. Kumar P, Priyanka. Cellular permeation pathways: current focus of permeation enhancers for effective drug delivery. *BAOJ Pharmaceutical Sciences* 2015; 1(1): 1-13.
8. Sari MF, Yuliani SH. Pembuatan dan Uji Aktivitas Sediaan Unguenta *Scarless Wound* dengan Ekstrak Binahong dan Zat Aktif Aspirin. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 2015; 12(2): 81-7. 28
9. Muhammed D, Hirata K, Hadgraft J, Lane M. Influence of skin penetration enhancers on skin barrier function and skin protease activity. *Eur J Pharm Sci* 2014; 51: 118-22.

10. Duracher L, Blasco L, Hubaud JC, Vian L, Marti-Mestres G. The Influence of alcohol, propylene glycol and 1,2-pentanediol on the permeability of hydrophilic model drug through excised pig skin. *International Journal of Pharmaceutics* 2009; 374: 39-45.





# Daya Antiinflamasi Salep Basis Larut Air Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Variasi Komposisi Enhancer Asam Oleat dan Propilen glikol

ORIGINALITY REPORT

# 15%

SIMILARITY INDEX

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="#">adoc.tips</a> Internet	34 words — 1%
2	<a href="#">www.airitilibrary.com</a> Internet	30 words — 1%
3	<a href="#">eprints.uad.ac.id</a> Internet	26 words — 1%
4	<a href="#">repository.uinjkt.ac.id</a> Internet	23 words — 1%
5	<a href="#">jn.nutrition.org</a> Internet	20 words — 1%
6	<a href="#">www.scribd.com</a> Internet	19 words — 1%
7	<a href="#">lrd.yahooapis.com</a> Internet	16 words — 1%
8	<a href="#">pt.scribd.com</a> Internet	16 words — 1%
9	<a href="#">mti.uad.ac.id</a> Internet	16 words — 1%
10	<a href="#">perpusnwu.web.id</a> Internet	15 words — 1%

11	<a href="http://anzdoc.com">anzdoc.com</a> Internet	12 words — < 1%
12	<a href="http://media.neliti.com">media.neliti.com</a> Internet	11 words — < 1%
13	<a href="http://journals.ums.ac.id">journals.ums.ac.id</a> Internet	11 words — < 1%
14	Clarissa B. Magalhães, Douglas R. Riva, Leonardo J. DePaula, Aline Brando-Lima et al. "In vivo anti-inflammatory action of eugenol on lipopolysaccharide-induced lung injury", Journal of Applied Physiology, 2010 Crossref	11 words — < 1%
15	<a href="http://fecoffee.blogspot.com">fecoffee.blogspot.com</a> Internet	11 words — < 1%
16	<a href="http://repository.uin-malang.ac.id">repository.uin-malang.ac.id</a> Internet	10 words — < 1%
17	<a href="http://scholar.unand.ac.id">scholar.unand.ac.id</a> Internet	10 words — < 1%
18	<a href="http://repository.upi.edu">repository.upi.edu</a> Internet	9 words — < 1%
19	<a href="http://jurnal.untan.ac.id">jurnal.untan.ac.id</a> Internet	9 words — < 1%
20	<a href="http://poltekkes-maluku.ac.id">poltekkes-maluku.ac.id</a> Internet	9 words — < 1%
21	<a href="http://docobook.com">docobook.com</a> Internet	9 words — < 1%
22	<a href="http://ejournal-balitbang.kkp.go.id">ejournal-balitbang.kkp.go.id</a> Internet	9 words — < 1%
23	<a href="http://dheeya300993.blogspot.com">dheeya300993.blogspot.com</a> Internet	9 words — < 1%

24	<a href="http://etheses.uin-malang.ac.id">etheses.uin-malang.ac.id</a> Internet	9 words — < 1%
25	<a href="http://independentdermsolutions.com">independentdermsolutions.com</a> Internet	8 words — < 1%
26	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Internet	8 words — < 1%
27	<a href="http://rositayudhamaharani.blogspot.com">rositayudhamaharani.blogspot.com</a> Internet	8 words — < 1%
28	<a href="http://www.mdpi.com">www.mdpi.com</a> Internet	7 words — < 1%
29	<a href="http://www.thieme-connect.com">www.thieme-connect.com</a> Internet	6 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES    ON  
EXCLUDE  
BIBLIOGRAPHY    ON

EXCLUDE MATCHES    OFF